УДК 615.91, 616.099

К ВОПРОСУ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ВЕЩЕСТВАМИ РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Колбасов К.С., Сибиряков В.К., Бонитенко Е.Ю.

ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, e-mail: kirill_kolbasov@mail.ru

Поражения раздражающими веществами глаз, кожи и дыхательных путей достаточно часто встречаются в связи с применением средств самообороны гражданами и специальных средств органами правопорядка. В настоящее время отсутствует адекватная и воспроизводимая экспериментальная модель ингаляционного поражения раздражающими веществами. Поэтому целью настоящего исследования являлось моделирование тяжёлых ингаляционных поражений веществами раздражающего типа действия на крысах. В качестве раздражающего вещества использовали рецептуру МПК-05, которая представляет собой смесь морфолида пеларгоновой кислоты 70% и этанола 30%. Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 160–180 г. В результате экспериментов на белых крысах с использованием ингаляционного пути введения рецептуры МПК-05 разработана экспериментальная модель, воспроизводящая основные звенья патогенеза острой и хронической интоксикации веществами раздражающего действия. Разработанная модель может быть использована для изучения ингаляционного поражения раздражающими веществами и оценки эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

Ключевые слова: экспериментальная модель, ингаляционные поражения, морфолид пеларгоновой кислоты (МПК), острая токсичность, хроническая токсичность, раздражающее действие, крысы

TO THE QUESTION OF MODELING ISSUES INHALATION INJURY SUBSTANCES OF IRRITATION TYPE ACTION

Kolbasov K.S., Sibiryakov V.K., Bonitenko E.Y.

Institute of Toxicology of Federal Medico-Biological Agency, Saint-Petersburg, e-mail: kirill_kolbasov@mail.ru

Defeats by the irritating substances of eyes, skin and respiratory tract often meet in connection with the use of means of self-defense by citizens and special means by law enforcement bodies. Now there is no the adequate and reproduced experimental model of inhalation defeat by the irritating substances. Therefore the purpose of the real research was modeling of crushing inhalation defeats by substances of irritating type action on rats. As the irritating substance used a compounding of MPK-05 which represents mix of a morfolid of pelargonic acid of 70% and ethanol of 30%. Experiments were made on white nonlinear rats males weighing 160–180 g. As a result of experiments on white rats using inhalation route of administration of the formulation of the MPK-05 developed an experimental model reproducing the main pathogenesis of acute and chronic intoxication irritant substances. The developed model can be used to study the inhalation injury irritating substances and evaluate the effectiveness treatment and preventive measures.

Keywords: experimental model, inhalation defeat, pelargonic acid morpholide, acute toxicity, chronic toxicity, irritant effect, rats

Вещества, оказывающие в минимальных концентрациях выраженное раздражающее действие на чувствительные нервные окончания роговицы глаз, слизистой оболочки верхних дыхательных путей, кожных покровов и вызывающие кратковременную, длящуюся немногим дольше периода воздействия потерю дееспособности поражённых, привлекают пристальное внимание специалистов-токсикологов [1, 11, 15, 16]. По тактическому назначению такая группа веществ относится к временно выводящим из строя [12, 13, 14]. Действительно, ноцицептивное действие раздражающих веществ проявляется практически без латентного периода, сравнительно непродолжительное время, и, как правило, отсутствует период последействия. Токсикологические характеристики таких веществ позволяют рассматривать их в качестве одного из видов средств самообороны, обеспечения общественного порядка и пресечения противоправных действий нарушителей.

Актуальность

Поражения раздражающими веществами глаз, кожи и дыхательных путей достаточно часто встречаются в связи с применением средств самообороны гражданами и специальных средств органами правопорядка. Особенно опасны и труднокурабельны поражения дыхательных путей, которые приводят к респираторному дистресс-синдрому взрослых (РДСВ): происходит повреждение эндотелия капилляров лёгких и альвеолярного эпителия, резко увеличивается сосудистая проницаемость, спазмируются легочные капилляры и повышается давление в них, наблюдается выраженное пропотевание плазмы и эритроцитов в альвеолы и интерстициальную ткань легких, развивается отёк легких и ателектаз [4, 8, 9].

Для разработки средств лечения ингаляционных поражений раздражающими веществами необходимы модели таких поражений на животных. Вместе с тем в настоящее время отсутствует адекватная и воспроизводимая экспериментальная модель ингаляционного поражения раздражающими веществами. Поэтому целью настоящего исследования являлось моделирование тяжёлых ингаляционных поражений веществами раздражающего типа действия на крысах.

Материалы и методы исследования

В качестве раздражающего вещества использовали рецептуру МПК-05, которая представляет собой смесь морфолида пеларгоновой кислоты 70% и этанола 30%. По физико-химическим свойствам МПК-05 является прозрачной подвижной летучей жидкостью с резко выраженными раздражающими свойствами.

Морфолид пеларгоновой кислоты, $C_{13}H_{25}O_2N$ – бесцветное кристаллическое вещество, нерастворимое в воде, имеет плотность 0,965 г/см^3 при температуре 25 °C, температуру кипения 120–130 °C при давлении 0,5 мм рт. ст., показатель преломления n_D – 1,4684 при температуре 25 °C, представляет собой соединение, хорошо растворимое в полярных органических растворителях [10].

В России МПК применяется в качестве ирританта для снаряжения газового оружия самообороны [6].

МПК обладает выраженным раздражающим действием на слизистые оболочки глаз и носоглотки, что проявляется жжением в глазах, лакримацией, ринореей и жжением в горле [3]. Раздражающая концентрация, вызывающая эти проявления у 50% добровольцев, оценивалась при экспозиции 1 мин – величиной 39 мг мин/м^3 , при экспозиции 2 мин – величиной 29 мг мин/м^3, а при 3-минутной экспозиции она составила – 21 мг·мин/м^3 [5, 18]. В высоких концентрациях МПК вызывает болевые ощущения на коже [3]. LD_{50} МПК при внутривенном введении кроликам составляет 21 мг/кг. Среднесмертельная токсодоза МПК – LCt_{50} в условиях динамической затравки в 200-литровой камере с экспозицией от 5 до 90 минут для крыс составляла 58 мг·мин/л, для мышей – 130 мг·мин/л, для морских свинок – 19 мг·мин/л [5, 17]. Расчётная среднесмертельная доза LD_{50} (мг/кг) при ингаляции аэрозоля МПК с диаметром частиц 1,8 микрон с учётом минутного объёма дыхания (л/мин), количества вещества в воздухе (мг/мин/л), процента осаждения вещества на массу тела (кг) составила для крыс – 23,2 мг/кг, для мышей – 104 мг/кг, для морских свинок – 5,7 мг/кг [5, 17].

Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 160–180 г. Содержание животных проводилось в соответствии с правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных и Приказу МЗ СР РФ № 708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». При моделировании в качестве объективного показателя острой ингаляционной токсичности рецептуры использовали среднесмертельную концентрацию LC_{50}, экспозиция которой в течение 4-х часов приводила к гибели 50% подопытных животных.

Статистическая обработка результатов предусматривала оценку значимости различий средних с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок.

Результаты исследования и их обсуждение

Моделирование ингаляционных поражений проводили рецептурой МПК-05. Динамическое ингаляционное воздействие данной рецептурой осуществляли в камерах типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л каждая. Для этого крыс-самцов помещали на промежуточный сетчатый пол камеры. В ходе экспериментов расход воздуха через камеру составлял 10 л/мин, а время воздействия 4 часа. Дозированную подачу монодисперсного аэрозоля (80% частиц имели диаметр около 5 микрон) с учетом сорбционных потерь на стенках камеры и в воздуховодах (40%) осуществляли с помощью оригинального паро-аэрозольного дозирующего генератора гравиметрическим методом. В ходе эксперимента наблюдали картину интоксикации, фиксировали гибель животных в течение 14 дней после затравки и проводили патологоанатомическое вскрытие погибших животных. Среднесмертельную концентрацию рецептуры при ингаляционном воздействии рассчитывали методом Литчфильда-Уилкоксона. Выраженность раздражающего действия рецептуры оценивали по характеру паранекротических изменений в лёгких (способность фиксировать ими нейтральный красный) и изменению активности лёгочного сурфактанта. Резорбтивные пороговые сдвиги определяли по изменению суммационно-подпорогового показателя (СПП), времени свёртываемости крови, содержанию эритроцитов, гемоглобина венозной крови, активности трансаминаз (АлТ, АсТ), содержанию общего белка сыворотки крови, хлоридов и белка суточной мочи. Суточную мочу собирали с помощью обменных клеток для крыс итальянской фирмы «Tecniplast».

Схема моделирования острого ингаляционного поражения представлена в табл. 1.

Клиническая картина отравления при ингаляционном воздействии сопровождалась резко выраженным раздражением верхних дыхательных путей и глаз, которое сочеталось с заторможенностью, сопором, боковым положением тела. Гибель отдельных особей наблюдалась в течение 0,5–1,5 часов затравки при явлениях локальных судорог, паралича и остановки дыхания. Гибель основной части экспериментальных животных при воздействии высоких концентраций рецептуры наблюдалась в течение первых 6–8 часов, причём на вскрытии отмечались венозный стаз, отёк лёгких,

геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния, к которым в более поздние сроки присоединялись очаги воспаления (пневмонии) с ателектазами и компенсаторной эмфиземой лёгких. LC_{50} составила приблизительно 2,5 мг/л (2500 мг/м^3), а LCt_{50} – 600 мг·мин/л. Это соответствует II–III классу умеренно опасных веществ [2].

Моделирование хронического ингаляционного поражения осуществлялось при ингаляционном воздействии рецептуры в дозе 1/20 LC_{50} (0,1 мг/л) на протяжении 3 месяцев ежедневной 4-часовой затравки. Расход воздуха через камеры составлял 1 л/мин.

Средняя суммарная поглощенная доза (LC_{50n}) составила 9 мг/л. По формуле Л.И. Медведя коэффициент кумуляции (К), равный отношению LC_{50n} к LC_{50}, составляет 3,6, т.е. рецептура обладает средними кумулятивными свойствами [7].

К окончанию эксперимента наблюдалась гибель 40 % подопытных животных.

В табл. 2 представлены результаты исследования физиологических и биохимических показателей при моделировании хронического ингаляционного поражения.

В результате длительного ингаляционного воздействия рецептуры МПК-05 в дозе 1/20 от LC_{50} оказалось, что в лёгких развились паранекротические изменения (снижение витального окрашивания клеток) и снизились защитные свойства сурфактантной системы (увеличение поверхностного натяжения – $ПН_{мин}$ лёгочных экстрактов). При этом величина весового коэффициента лёгких (ВКЛ) не изменялась.

Таблица 1

Дозозависимое моделирование острого ингаляционного поражения рецептурой МПК-05 на белых крысах

Способ введения	Доза (концентрация) рецептуры, мг*/л	Количество животных, пало/всего	Величина LC_{50}, мг/л
Ингаляционный	0,1 0,2 0,5 1,0 2,0 5,0 10,0	0/10 1/10 2/10 3/10 5/10 8/10 10/10	LC_{50} = 2,5 ± 0,5

Примечание. * – Масса 1 мкл рецептуры принималась равной 1 мг.

Таблица 2

Влияние хронического ингаляционного воздействия рецептуры МПК-05 на белых крыс

Показатель, единица измерения	Контроль (3-й месяц) n = 10	Опыт		
		1-й месяц n = 10	2-й месяц n = 10	3-й месяц n = 10
1	2	3	4	5
ВКЛ, мг/100 г массы тела	6,2 ± 0,1	6,0 ± 0,2	6,5 ± 0,4	6,3 ± 0,3
Сорбция нейтрального красного лёгкими, единицы оптической плотности/г сырой ткани	0,120 ± 0,001	0,111 ± 0,008	0,080 ± 0,001*	0,070 ± 0,007*
$ПН_{мин}$ экстрактов лёгких, мН/м (активность сурфаканта)	20,0 ± 0,5	25,2 ± 1,5	32,0 ± 0,9*	36,6 ± 1,5*
СПП, В	12,0 ± 1,4	12,1 ± 1,3	11,8 ± 1,3	11,7 ± 1,2
Время свёртывания, с	180 ± 10	175 ± 15	173 ± 10	179+10
Содержание эритроцитов, млн/мм^3	7,0 ± 0,2	7,1 ± 0,3	7,4 ± 0,4	7,5 ± 0,3
Содержание гемоглобина, г %	13,4 ± 1,2	14,2 ± 1,1	14,0 ± 1,3	14,1 ± 1,5
АлТ, мккат/л	0,85 ± 0,04	1,17 ± 0,06	1,52 ± 0,07*	1,96 ± 0,08*
АсТ, мккат/л	0,68 ± 0,05	0,70 ± 0,04	1,75 ± 0,06*	1,68 ± 0,05*
Белок сыворотки, г/л	61 ± 3	63 ± 2	59 ± 1	57 ± 2
Белок мочи, г/л	0,34 ± 0,02	0,60 ± 0,03*	0,79 ± 0,11*	0,96 ± 0,18*
Хлориды мочи, мг/л	24,3 ± 4,3	20,0 ± 2,4	19,8 ± 2,1	19,4 ± 1,3

Примечание. * – Достоверные отличия от контроля при $p < 0,05$.

Достоверно увеличилось содержание АлТ, что свидетельствует о цитолизе гепатоцитов. Вследствие поражения нефроэпителия отмечено увеличение содержания белка в моче ($p < 0,05$). Эти сдвиги в 2–3 раза превысили норму, что указывает на более чем пороговое действие исследуемой рецептуры.

Выводы

1. Разработанная модель позволяет изучать патогенез острого и хронического ингаляционного поражения раздражающими веществами.

2. На разработанной модели ингаляционных поражений возможна оценка эффективности препаратов на течение интоксикации по уменьшению летальности и увеличению продолжительности жизни.

Список литературы

1. Азбукин Г.В. К вопросу о патогенезе действия раздражающих веществ / Г.В. Азбукин // Военно-медицинский журнал. – 1982. – №11. – С. 52.

2. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Система стандартов безопасности труда. – М., 1977.

3. Дик В.Н. Взрывчатые вещества, пороха и боеприпасы отечественного производства. Часть 1. Справочные материалы: Справочник / В.Н. Дик. – Минск: Охотконтракт, 2009. – 280 с.

4. Долина О.А. Анестезиология и реаниматология / О.А. Долина. – М., 1998. – С. 301–345.

5. Лапина Н.В. Токсикологическая характеристика морфолида пеларгоновой кислоты (экспериментальное исследование): диссертация кандидата медицинских наук / Н.В. Лапина. – Санкт-Петербург, 2006. – 112 с.

6. Приказ № 583н от 22.10.2008 г. Минздравсоцразвития РФ. О разрешении к применению слезоточивых и раздражающих веществ в составе патронов к газовому оружию, механических распылителей, аэрозольных и других устройств гражданского оружия самообороны. – 2008.

7. Рекомендации для предварительной оценки токсичности химических веществ ускоренным методом. Методическое письмо. – Ленинград: НИИ гигиены труда и профзаболеваний, 1971. – 51 с.

8. Сатишур О.Е. Механическая вентиляция легких / О.Е. Сатишур. – М., 2006. – С. 237–257.

9. Спас В.В. Респираторный дистресс-синдром взрослых / В.В. Спас, Р.Э. Якубцевич. – М., 2007. – 230 с.

10. Франке З. Химия отравляющих веществ / З. Франке. – М.: «Химия», 1973. – Т. 1. – С. 102–103.

11. Anderson P.J., Lau G.S.N., Taylor W.R.J. et al. Acute effect of the potent lachrymator O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) tear gas / P.J. Anderson, G.S.N. Lau, W.R.J. Taylor et al. // Hum. and Exp. Toxicol. – 1996. – Vol. 15, № 6. – P. 461–465.

12. Balfaur D. Studies on the uptake and metabolism of dibenz(b,f)-1,4-oxazepine (CR) by guinea pig cornea / D. Balfaur // Toxicology. – 1978. – Vol. 9, № 1–2. – P. 11–20.

13. Ballantyne B. Evaluation of ophthalmic hazards from an aerosol generator of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) / B. Ballantyne // Military medicine. – 1979. – Vol. 144, № 10. – P. 691–694.

14. Ballantyne B., Gall D., Robson D.C. Effects on man of drenching with dilute solutions of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) and dibenz(b,f)-1,4-oxazepine (CR) / B. Ballantyne, D. Gall, D.C. Robson // Medicine, Science and Law. – 1976. – Vol. 16, № 3. – P. 159–170.

15. Barr Stepnen J. Chemical warfare agents / Stepnen J. Barr // Top. Emergency Med. – 1985. – Vol. 7, № 1. – P. 62–70.

16. Foster R.W., Weston Kathleel M. Chemical irritant algesia assessed using the human blister base / Kathleel M. Weston, R.W. Foster // Pain. – 1986. – Vol. 25, № 2. – P. 269–278.

17. Punte Charles L., Ballard Thomas A. and Warner John T. Inhalation Studies with Chloracetophenon, Diphenilaminochloroarsine and Pelargonic Morpholide. I. Animal Exposures / Charles L. Punte, Thomas A. Ballard, John T. Warner // Am. Ind. Hyg. Ass. – May 16, 1962. – Vol. 23. – P. 194–198.

18. Punte Charles L., Gutentag Philip J., Owens Edmund J. and Gongwer Louis E. Inhalation Studies with Chloracetophenon, Diphenilaminochloroarsine and Pelargonic Morpholide. II. Human Exposures / Charles L. Punte, Philip J. Gutentag, Edmund J. Owens, Louis E. Gongwer // Am. Ind.Hyg. Ass. – May 16, 1962. – Vol. 23. – P. 199–202.

References

1. Azbukin G.V. On the pathogenesis of action irritants, *Military Medical Journal*, 1982, no. 11, p. 52.

2. State Standard 12.1.007-76. Noxious substances. Classification and general safety requirements. Occupational safety standards system, M., 1977.

3. Dik V.N. Explosives, gunpowder and ammunition produced domestically, Minsk: Ohotkontrakt, 2009, 280 p.

4. Dolina O.A. Anesthesiology and Reanimatology, M., 1998, pp. 301–345.

5. Lapina N.V. Toxicological characteristic morpholide of pelargonic acid (experimental study). Thesis of the candidate of medical sciences, St. Petersburg, 2006, 112 p.

6. Order no. 583n of 22.10.2008. Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation. On the resolution to the use of tear and irritating substances in the ammunition to gas weapon, mechanical disseminators, spray and other devices civilian self-defense weapons, 2008.

7. Recommendations for pre-assessment of the toxicity of chemicals accelerated method. Methodological letter. Leningrad: Institute of Hygiene and Occupational Diseases, 1971, 51 p.

8. Satishur O.E. Mechanical ventilation of lungs, M., 2006, pp. 237–257.

9. Spas V.V., Yakubtsevich R.E. Respiratory distress syndrome of adults, M., 2007, 230 p.

10. Franke Z. Chemical warfare agents, Moscow: «Chemistry», 1973, Vol. 1, pp. 102–103.

11. Anderson P.J., Lau G.S.N., Taylor W.R.J. et al. Acute effect of the potent lachrymator O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) tear gas, *Hum. and Exp. Toxicol.*, 1996, Vol. 15, no. 6, pp. 461–465.

12. Balfaur D. Studies on the uptake and metabolism of dibenz (b,f)-1,4-oxazepine (CR) by guinea pig cornea, *Toxicology*, 1978, Vol. 9, no. 1–2, pp. 11–20.

13. Ballantyne B. Evaluation of ophthalmic hazards from an aerosol generator of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS), *Military medicine*, 1979, Vol. 144, no. 10, pp. 691–694.

14. Ballantyne B., Gall D., Robson D.C. Effects on man of drenching with dilute solutions of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) and dibenz(b,f)-1,4-oxazepine (CR), *Medicine, Science and Law*, 1976, Vol. 16, no. 3, pp. 159–170.

15. Barr Stepnen J. Chemical warfare agents, *Top. Emergency Med.*, 1985, Vol. 7, no. 1, pp. 62–70.

16. Foster R.W., Weston Kathleel M. Chemical irritant algesia assessed using the human blister base, *Pain*, 1986, Vol. 25, no. 2, pp. 269–278.

17. Punte Charles L., Ballard Thomas A. and Warner John T. Inhalation Studies with Chloracetophenon, Diphenilaminochloroarsine and Pelargonic Morpholide. I. Animal Exposures, *Am. Ind.Hyg. Ass.*, May 16, 1962, Vol. 23, pp. 194–198.

18. Punte Charles L., Gutentag Philip J., Owens Edmund J. and Gongwer Louis E. Inhalation Studies with Chloracetophenon, Diphenilaminochloroarsine and Pelargonic Morpholide. II. Human Exposures, *Am. Ind.Hyg. Ass.*, May 16, 1962, Vol. 23, pp. 199–202.

Рецензенты:

Петров А.Н., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией психофармакологии, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург;

Носов А.В., д.м.н., заведующий лабораторией токсикологии, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 19.02.2015.